

# 心筋細胞内移植後の細胞増殖・分化機序の解明および移植最適細胞の開発に関する研究

著者	白石 昭一郎, 渡田 正二
発行年	2003-06
その他の言語のタイトル	THE INVESTIGATION OF THE MECHANISM OF PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION AFTER CELL TRANSPLANTATION INTO MYOCARDIUM AND THE DEVELOPMENT OF OPTIMAL TRANSPLANT CELLS
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10422/4171">http://hdl.handle.net/10422/4171</a>

心筋細胞内移植後の細胞増殖・分化機序の解明および  
移植最適細胞の開発に関する研究

課題番号：12671305

平成12年度～平成14年度科学研究費補助金 基礎研究（C）（2）研究成果  
報告書

平成15年6月

研究代表者 白石 昭一郎  
滋賀医科大学医学部助手

## 研究組織

研究代表者：白石 昭一郎（滋賀医科大学医学部助手）

研究協力者：松林 景二（滋賀医科大学医学部大学院生）

## 交付決定額（配分額）

（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 12 年度	160	0	160
平成 13 年度	130	0	130
平成 14 年度	50	0	50
総計	340	0	340

## 研究発表

### （１）学会雑誌

発表者名：Keiji Matsubayashi, MD; Paul W.M. Fedak, MD; Donald A.G. Mickle, MD; Richard D. Weisel, MD; Tsukasa Ozawa, MD PhD; Ren-Ke Li, MD, PhD

テーマ名：Improved Left Ventricular Aneurysm Repair with Bioengineered Vascular Smooth Muscle Grafts

学会誌名：Circulation 2003; 108 (Supplement 1) 発表予定

滋賀医科大学附属図書館



2002018406

## (2) 口頭発表

### <国外発表>

発表者名 : Keiji Matsubayashi, Richard D Weisel, Donald A G Mickle, Sacha Bratinova, Nobuhisa Ohno, Ren-Ke Li

テーマ名 : Aortic Smooth Muscle Cell Transplantation Induced Angiogenesis and Improved Heart Function

学会名 : American Heart Association Scientific Sessions 2001 11 月

発表者名 : K. Matsubayashi, R.D. Weisel, D.A.G. Mickle, S. Bratinova, N. Ohno, R-K. Li

テーマ名 : Aortic Smooth Muscle Cells (ASMCs) Transplanted into a Rat Heart Scar Induced Angiogenesis & Improved Heart Function

学会名 : 54<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Canadian Cardiovascular Society 2001 10 月

発表者名 : Keiji Matsubayashi, Tsukasa Ozawa, Ren-Ke Li

テーマ名 : A Rat Left Ventricular Aneurysm Replacement with Cell-Seeded Biodegradable Materials

学会名 : American Heart Association Scientific Sessions 2002 11 月

### <国内発表>

発表者名 : 松林景二, Ren-Ke Li, Richard D Weisel, Donald A G Mickle, 大野暢久, 渡田正二

テーマ名 : 平滑筋細胞移植による心筋瘢痕組織内 angiogenesis および心機能改善の検討

学会名 : 第 54 回日本胸部外科学会総会 2001 10 月

## 研究成果

### 1. 成人ラットの心筋細胞培養

成人ラットの心室心筋を採取し、トリプシンおよびコラゲナーゼで分離し、10%FBSを含むIMDMで培養を行った。約1週間後に、細胞数 $2 \times 10^5$ 個に細胞が増殖、細胞の性質が変わることなく、passage5まで継代し得た。同時に、同様に成人ラットの大動脈および子宮より、平滑筋細胞の分離、培養にも成功した。

### 2. 心筋細胞の確認

心筋培養細胞の収縮蛋白をミオシン重鎖，トロポニン I で免疫染色を行ったが，染色陽性である確固たる証拠はなかった．アクチンによる染色は陽性であり，心筋繊維芽細胞の増殖の可能性が示唆された．平滑筋細胞に対しては $\alpha$ -smooth muscle actine, smooth muscle myosin heavy chain の免疫染色陽性であった．

### 3. 左心室癒痕作成

ラットを全身麻酔下に開胸し，左前下行枝を根部で結紮して心筋梗塞モデルを作成した．モデル作成時の死亡率は10～20%であった．心エコー図で癒痕範囲を計測したところ，癒痕組織の左心室自由壁に対する割合は30～40%で，生存例は最大50%であった．組織学的には，癒痕組織部位の菲薄化を認め，血管組織の減少，コラーゲンの増加，アクチン陽性の心筋繊維芽細胞の増殖を確認し，貫壁性梗塞を作成し得た．

### 4, 5. 心筋細胞移植と移植細胞の特質の検討

移植細胞としては移植後，移植環境と異なるため，同定が可能な平滑筋細胞を選択した．移植前にBrdUにてラベリングしておいた細胞をラットの癒痕組織に移植を行った結果，移植5週後に癒痕内での生存・生着を確認した．移植平滑筋細胞は $\alpha$ -smooth muscle actine, smooth muscle myosin heavy chain の免疫染色陽性でもあった．また，平滑筋細胞の特性である血管増殖因子の誘導に対して，移植癒痕組織内のVEGFを測定すると，非移植癒痕組織に比して有意に高かった．細胞外マトリックスの構築の要素として，移植癒痕組織内では特殊染色により，エラスティン，総コラーゲンの増加を認めた．

## 今後の研究展開

虚血瘢痕領域への細胞移植により，移植細胞の生存・生着，血管新生，細胞外マトリックスの構築は確認し得たが，実際に移植細胞の生存率は不明であり，生着も不安定である．移植1週間後の瘢痕組織内における細胞生存率は20%以下とも言われており，細胞移植単独での心筋再生は多くを望めない．よって，移植細胞の瘢痕組織への確実な生着を目指して，細胞播種性生体吸収性材料を用いることによって，移植細胞の生存，生着率は著明に改善するのではないかと考えた．そこで，細胞播種性生体吸収性材料を用いたラット左心室瘤形成手術を既に試み，成功しており，新たな虚血性心筋症に対する治療法として期待するものである．